

**SKAFOLDY CHITOZANOWE MODYFIKOWANE
ZWIĄZKAMI FLUOROORGANICZNYMI**

**CHITOSAN SCAFFOLDS MODIFIED
WITH FLUOROORGANIC COMPOUNDS**

Monika Bilka-Markowska, Anna Sz wajca*

*Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Chemii,
ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań
e-mail: Anna.Szwajca@amu.edu.pl

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Biopolimery polisacharydowe

1.1. Chitozan –budowa i otrzymanie

2. Modyfikacja chitozanu związkami fluoroorganicznymi – żele i aerozele

3. Polisacharydowe materiały bioadhezyjne

3.1. Fluorowane nanocząstki na bazie chitozanu

4. Wielofunkcyjne membrany Chitozanowe

4.1. Hydrofobowa modyfikacja chitozanowych membran związkami fluoroorganicznymi

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane



Dr Monika Bilka-Markowska jest adiunktem w Zakładzie Syntezy i Struktury Związków Organicznych Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Ukończyła studia na kierunku Chemia Ogólna na Wydziale Chemii UAM w 2008 roku, tam również otrzymała w 2012 r. stopień doktora nauk chemicznych. Jej zainteresowania naukowe dotyczą chemii związków fluoroorganicznych, w tym przede wszystkim węglowodanów. Skupia się nie tylko na samej syntezie określonych związków, ale także na opracowaniu mechanizmów reakcji wprowadzania atomu fluoru do cząsteczki organicznej oraz na badaniu ich właściwości elektronowych.



<https://orcid.org/0000-0002-9024-5479>



Dr hab. Anna Szwejca, prof. UAM - obecnie pracuje w Zakładzie Syntezy i Struktury Związków Organicznych Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Z Wydziałem Chemii związana jest od czasu studiów aż do chwili obecnej. Prowadząc wykłady i zajęcia laboratoryjne z materiałów biomedycznych i polimerów łączy pracę dydaktyczną z zainteresowaniami naukowymi.



<https://orcid.org/0000-0003-3313-6847>

ABSTRACT

Chitosan (CS) is widely investigated due to its good film forming property. Various methods of preparation of chitosan have been reported over the years. Generally, treatment of chitin with alkali leads to N-deacetylation and the formation of chitosan. Both chitin and chitosan as polysaccharides refer to families of partially substituted polysaccharides. Thanks to many modifications that can be applied to chitosan, e.g. combining with drugs, fluoroorganic compounds, nerve stem cells, and connecting with other biopolymers, this material has many medical applications and still seems to be very promising in the future. Chitosan and chitin as many other biopolymers are widely used in biomaterials science. Biopolymers are biocompatible, biodegradable and non-toxic for the human body.

Keywords: chitosan, modified biopolymers, hydrophilic and hydrophobic properties of biocopolymers, fluoroorganic compounds

Słowa kluczowe: chitozan, biopolimery modyfikowane, hydrofilowe i hydrofobowe właściwości biokopolimerów, związki fluoroorganiczne

WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

API	– N-(3-aminopropyl)-imidazol
ARGET	– regeneracja aktywatora przez transfer elektronu
ATRP	– polimeryzacja rodnikowa z przeniesieniem atomu
CGA	– aerożele chitozanowe na bazie zredukowanego tlenku grafenu
CMCS	– karboksymetylochitozan
CS	– chitozan
ECM	– macierz pozakomórkowa
FM	– bezwodnik perfluoromasłowy
GAG	– glikozoaminoglikany
HA	– kwas hialuronowy
MACF	– metakrylamid chitozanu modyfikowany łańcuchami perfluorowęglowymi
NPs	– nanocząstki
PFC	– perfluorowęglowodory
PFDT	– 1H,1H,2H,2H-perfluoro(dekano)tiol
PFOSF	– perfluoro(oktylo)trichlorosilan
PHEMA	– metakrylan hydroksyetylu
RDRP	– polimeryzacja rodnikowa z odwracalną dezaktywacją
XRD	– rentgenowska dyfrakcja proszkowa

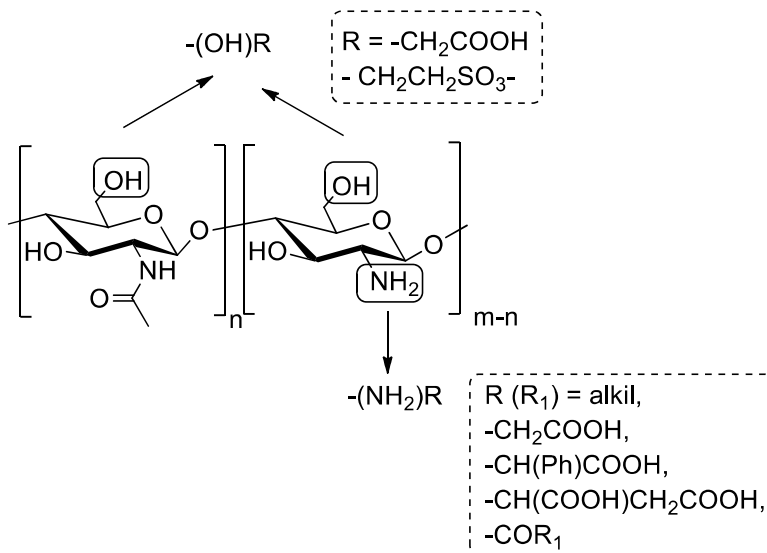
WPROWADZENIE

Zarówno chityna jak i jej pochodne, w tym chitozan, wykazują aktywność biologiczną hamując wzrost drobnoustrojów chorobotwórczych, przez co znajdują wiele zastosowań w medycynie oraz będąc biokompatybilnymi i biodegradowalnymi polisacharydami, jako użyteczny materiał biomedyczny.

Rozkład chitozanu w ludzkim ciele zachodzi w wyniku enzymatycznej degradacji hydrolitycznej przez lizozymy, a mechanizm ten można modelować za pomocą analizy *in vitro*. Rozpad chitozanu przez lizozymy następuje poprzez hydrolizę wiązania glikozydowego między jednostkami polisacharydowymi w nici kopolimeru. Glukoamina i sacharyd, które są produktami tego procesu, mogą być metabolizowane lub przechowywane w organizmie jako proteoglikany. Chitozan będąc w ponad 50% zdeacetylowaną formą chityny wykazuje lepsze od niej powinowactwo do wody i jako kationowy kopolimer wykazuje dobre właściwości nawilżające cenione w przemyśle kosmetycznym.

Z uwagi na właściwości adsorbujące znalazł również zastosowanie w przemyśle spożywczym, tekstylnym i papierniczym.

Funkcjonalizacja substancji polimerowych ma duże znaczenie dla rozwoju innowacyjnych materiałów do zastosowań w dentystyce, implantologii, protetyce, farmaceutyce oraz inżynierii biomedycznej i tkankowej. Przez wiele dziesięcioleci funkcjonalizacja chitozanu stanowiła jedynie sposób na poprawę jego właściwości, takich jak rozpuszczalność, charakter hydrofobowy, zdolność tężenia czy powinowactwo w kierunku substancji bioaktywnych. W tym celu chitozan poddawano m.in. takim reakcjom chemicznym, jak [1–4]: acylowanie, alkilowanie, fosforylacja, tiolowanie, sulfonowanie, czwartorzędowanie, reakcjom typu „*Click Chemistry*”, szczepienie polimerów, sprzęganie z cyklodekstrynami oraz reakcjom z wykorzystaniem cieczy jonowych. Obecnie, chemiczna modyfikacja chitozanu obejmuje przede wszystkim reakcje prowadzone na pierwszorzędowej grupie aminowej oraz grupie hydroksylowej (Rys. 1). Przeprowadzane modyfikacje z uwagi na właściwości otrzymywanego kopolimeru podzielić można na dwie podstawowe grupy, tj. hydrofilowe i hydrofobowe.

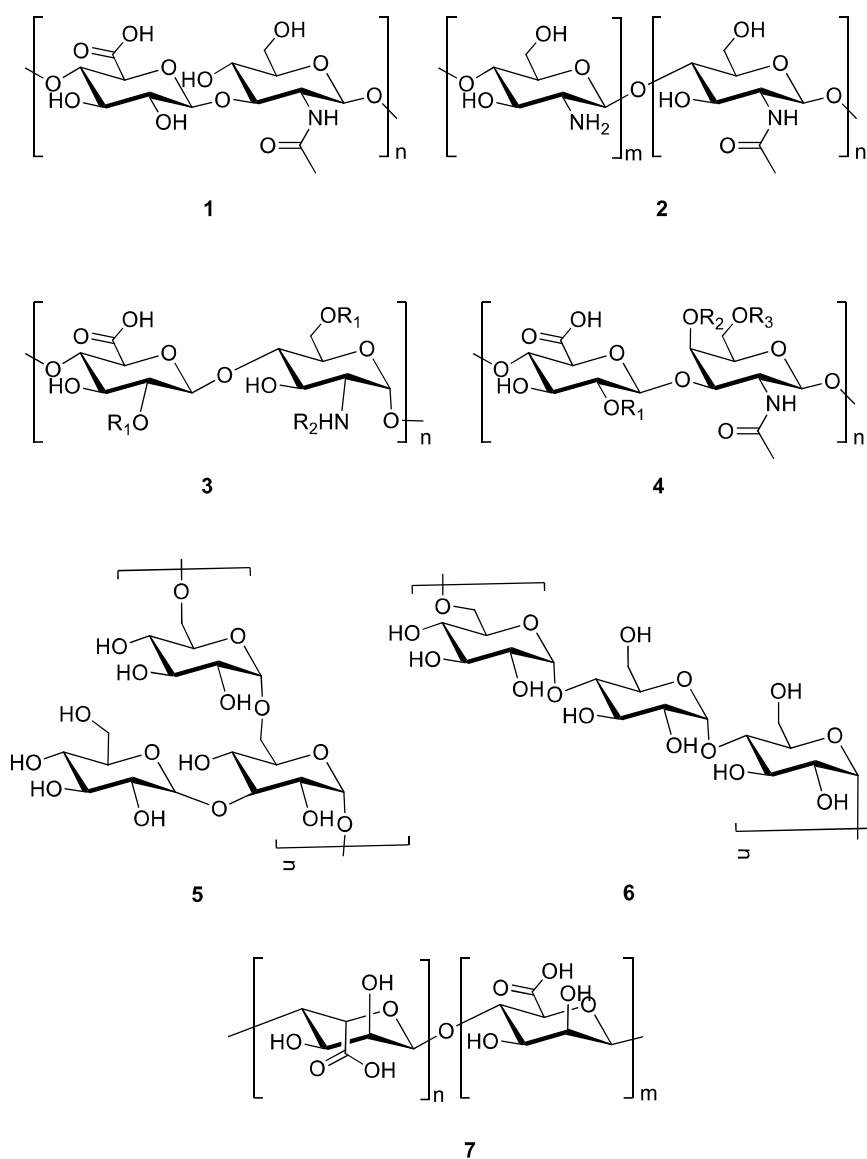


Rysunek 1. Schemat modyfikacji chemicznych chitozanu grup $-NH_2$ i $-OH$

Figure 1. Scheme of chemical modifications of the $-NH_2$ and $-OH$ groups of chitosan

1. BIOPOLIMERY POLISACHARYDOWE

Polisacharydy należą do jednej z trzech głównych grup naturalnych biomakromolekuł, obok kwasów nukleinowych oraz białek. Stanowią cenny materiał budulcowy oraz zapasowy w organizmach żywych. Polisacharydy to biopolimery węglowodanowe o strukturze liniowej lub rozgałęzionej, zbudowane z licznych podjednostek cukrowych połączonych wiązaniami glikozydowymi (Rys. 2) [5]. W grupie polisacharydów szczególne znaczenie odgrywają glikozoaminoglikany (GAG), które ze względu na ich specyficzną rolę w procesach biologicznych, stanowią cenny materiał wykorzystywany w biomedycynie [5]. Są to makrocząsteczki zbudowane z powtarzających się jednostek dwucukrowych, z których jedną stanowi aminocukier, natomiast druga to kwas uronowy. Dodatkowo w strukturze tychże związków często występuje grupa siarczanowa. Do glikozoaminoglikanów poza kwasem hialuronowym (**1**) należą również heparyna (**3**) oraz siarczan chondroityny (**4**) (Rys. 2) [5].



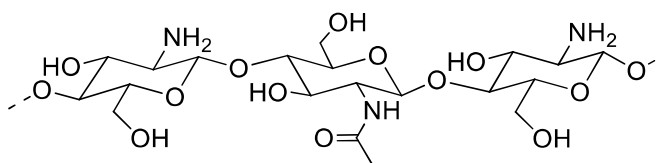
Rysunek 2. Struktury wybranych naturalnych polisacharydów o zastosowaniu biomedycznym: kwas hialuronowy (1); chitozan (2); heparyna (3) $R_1=SO_3H$, $R_2=SO_3H$; chondroityna (4) $R_1=R_3=H$, $R_2=SO_3H$ lub $R_1=R_2=H$, $R_3=SO_3H$ lub $R_2=H$, $R_1=R_3=SO_3H$ lub $R_1=H$, $R_2=R_3=SO_3H$ - pozyskiwane z materiału zwierzęcego oraz dekstran (5) i pullulan (6) - pozyskiwane z mikroorganizmów, a także kwas alginowy (7) pozyskiwany z alg [5]

Figure 2. Structures of selected natural polysaccharides for biomedical use: obtained from animal material: hyaluronic acid (1); chitosan (2); heparin (3) $R_1 = SO_3H$, $R_2 = SO_3H$; chondroitin (4) $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = SO_3H$ or $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = SO_3H$ or $R_2 = H$, $R_1 = R_3 = SO_3H$ or $R_1 = H$, $R_2 = R_3 = SO_3H$, and obtained from microorganisms: dextran (5), pullulan (6), and also obtained from algae alginate (7) [5]

Heparyna jest środkiem przeciwkrzepliwym stosowanym od lat trzydziestych XX w. Preparaty oparte na kwasie hialuronowym są zatwierdzone przez Agencję Żywności i Leków oraz przez Europejską Agencję Leków do zastosowania w przypadkach choroby zwyrodnieniowej stawów. Chitozan natomiast zatwierdzono jako preparat opatrunkowy do leczenia trudno gojących się ran oraz preparat zatrzymujący krwawienie z uwagi na korzystne właściwości hemostatyczne [6], a także jako składnik diety, w takich krajach jak Japonia, Finlandia, czy Włochy [7].

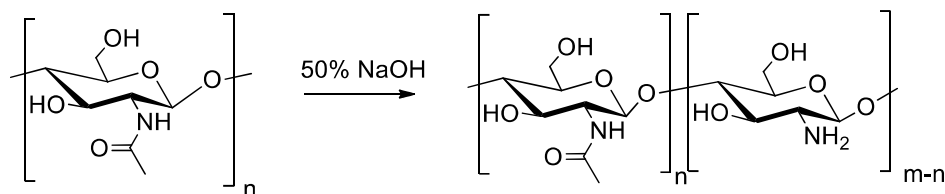
1.1. CHITOZAN – BUDOWA I OTRZYMYWANIE

Chitozan (CS) jest kopolimerem zbudowanym z losowo ułożonych jednostek cukrowych 2-acetamido-2-deoksy- β -D-glukopiranozy i 2-amino-2-deoksy- β -glukopiranozy, jak pokazano na Rys. 3, w swojej budowie chitozan podobny jest do kwasu hialuronowego (HA) [6]. Glukozamina i *N*-acetyloglukozamina połączone są wiązaniem β -1,4-glikozydowym (Rys. 3).



Rysunek 3. Chitozan
Figure 3. Chitosan

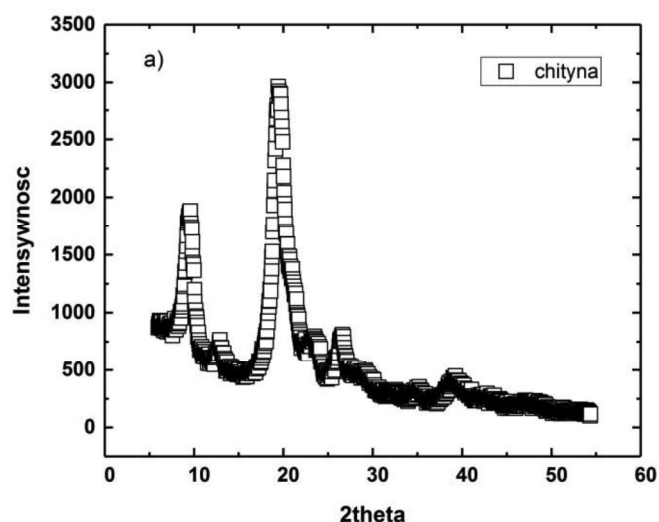
Chitozan otrzymywany jest w wyniku reakcji deacetylacji oczyszczonej chityny stężonymi roztworami ługów (Rys. 4). Produkcja handlowo czystej chityny opiera się w dużej mierze na zagospodarowaniu odpadów morskiego przemysłu spożywczego. Skorupiaki stanowią największe źródło chityny, ale występuje ona również w ścianach komórkowych grzybów i w egzoszkielecie owadów.

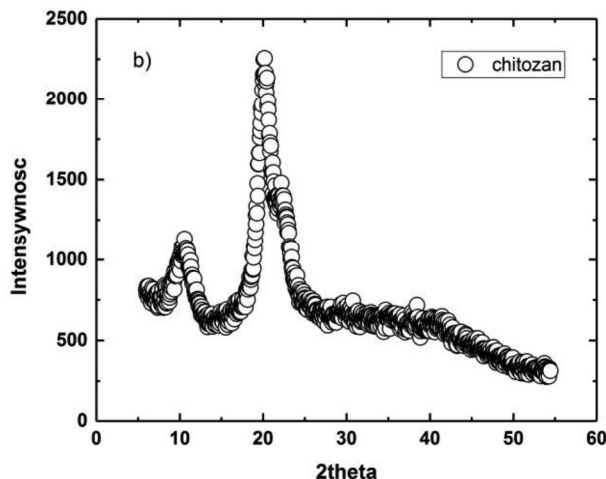


Rysunek 4. Schemat syntezy chitozanu na drodze reakcji deacetylacji chityny
Figure 4. Scheme of chitosan synthesis. Chitin deacetylation reaction

Stosunek poszczególnych merów (n i m) zależy od stopnia alkalicznej deacetylacji, której poddawana jest chityna w celu otrzymania chitozanu. Przynajmniej 50% deacetylacja daje oczekiwany produkt. Obecność grup funkcyjnych, takich jak hydroksylowa, acetamidowa i aminowa w macierzystym szkielecie chitozanu czyni go przydatnym substratem do modyfikacji chemicznej. Przeprowadzane modyfikacje pozwalają uzyskać pochodne kopolimeru o pożądanych właściwościach fizykochemicznych i biochemicznych bez żadnych zmian w jego podstawowym łańcuchu. Sama grupa aminowa w pierścieniu cukrowym chitozanu może uczestniczyć w reakcjach podstawienia a także jako ligand w reakcjach tworzenia kompleksów [8]. Obecność pierwszorzędowych grup aminowych wzdłuż szkieletu CS, nadaje mu charakter kationowy (CS jest słabą zasadą ($pK_a = 6,4$)). Jako polimer wykazuje zatem takie właściwości jak zachowanie zależne od pH, przyczepność do śluzu i zdolność do otwierania ciasnych połączeń nabłonkowych [8]. Cząsteczki chitozanu o dodatnim ładunku reagują z ujemnie naładowanymi erytrocytami i trombocytami efektywnie tamując krwawienie.

Właściwości fizyko-chemiczne powstałego chitozanu zależą od kilku istotnych czynników, a mianowicie: stężenia czynnika deacetylującego oraz czasu i temperatury procesu deacetylacji. Reakcja prowadzona w temperaturze 120°C skutkuje otrzymaniem biokopolimeru o stopniu deacetylacji ok 65%, którego widmo XRD różni się od widma wyjściowej chityny (Rys. 5).





Rysunek 5. Widmo XRD chityny (a) i chitozanu (b) otrzymanego w reakcji deacetylacji chityny z 50% roztworem NaOH

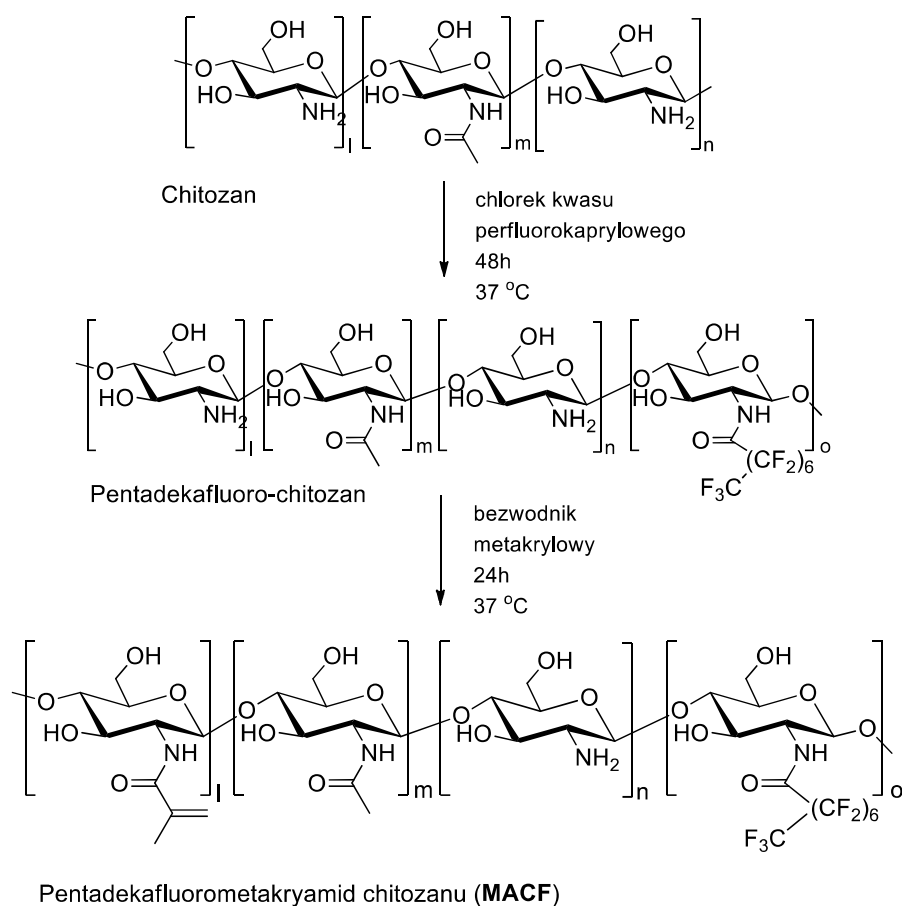
Figure 5. XRD spectrum of chitin (a) and chitosan (b) obtained by deacetylation of chitin with 50% NaOH

2. MODYFIKACJA CHITOZANU ZWIĄZKAMI FLUOROORGANICZNYMI – ŻELE I AEROŻELE

Wśród licznych modyfikacji chemicznych chitozanu jako polisacharydu na szczególną uwagę zasługują reakcje wprowadzania związków fluoroorganicznych do jego polimerowej struktury. Właściwości fizykochemiczne jakie posiadają związki fluoroorganiczne, w tym fluorowane węglowodany [9] stanowią podstawę do projektowania materiałów o większej lipofilowości w porównaniu z ich niefluorowanymi analogami. Funkcjonalizacja chitozanu w kierunku pochodnych zawierających fragmenty fluorowane polega w głównej mierze na wprowadzaniu grup fluorowanych łańcuchów alkilowych lub pierścieni aromatycznych do szkieletu polimerowego chitozanu [9].

Perfluorowęglowodory (PFC) ze względu na ich zdolności do przenoszenia gazów oddechowych w warunkach biologicznych stosuje się jako substytuty krwi. PFC powstają w wyniku całkowitego fluorowania węglowodorów (wymiana atomów wodoru na atomy fluoru), co prowadzi do wytworzenia związków o innej reaktywności [10]. Obecność gęstej chmury elektronów, wyższy potencjał jonizacji i większe powinowactwo elektronowe w porównaniu do atomów wodoru, nadają im odmienne cechy. Brak rozpuszczalności PFC w środowisku wodnym wynika z ich hydrofobowego charakteru. PFC łącząc się z substancjami pomocniczymi tworzą

zawiesiny koloidalne [11]. Często podstawę materiałów hydrożelowych stanowi metakryloamid chitozanu modyfikowany łańcuchami perfluorowęglowymi (MACF), który wykazuje właściwości typowe dla PFC i dodatkowo może być stosowany do lokalnego natlenienia. MACF (Rys. 6) stosuje się jako materiał podstawowy do otrzymywania opatrunków hydrożelowych, które służą do leczenia ran skórnych. Hydrożele MACF nasycone tlenem są badane pod kątem ich zdolności do dostarczania i podtrzymywania tlenu oraz degradacji w środowisku biologicznym [12].



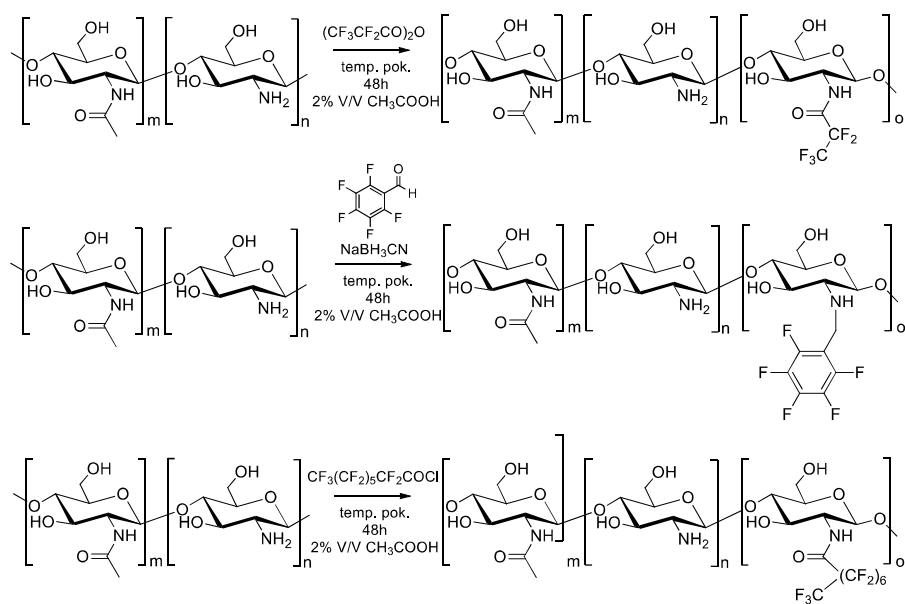
Rysunek 6. Schemat syntezy polimeru MACF
Figure 6. Scheme of MACF polymer synthesis

Leczenie tlenem sprzyja gojeniu się ran przez: poprawę metabolizmu, syntezę macierzy pozakomórkowej (*extracellular matrix*, ECM) i neowaskularyzację przy jednoczesnym ograniczeniu aktywności przeciwdrobnoustrojowej [6]. W związku z tym dostarczanie tlenu w sposób ciągły jest ważnym czynnikiem w przypadku terapii ran [7]. Pomimo swoich niekwestionowanych zalet, stosowane obecnie terapie dostarczania tlenu są niewygodne dla pacjenta oraz wymagają dostępu do drogiego i specjalistycznego sprzętu. Biorąc pod uwagę znaczenie tlenu w procesie gojenia się ran oraz regeneracji tkanek, jednym z głównych zadań jest stworzenie opatrunków hydrożelowych o właściwościach natleniających. Badania na modelach zwierzęcych z wykorzystaniem dotychczas otrzymanych opatrunków zawierających PFC wskazują na poprawę gojenia się ran. Świadczy o tym synteza kolagenu, lepsza neowaskularyzacja, a także przyspieszone dojrzewanie keratynocytów w porównaniu do rezultatów uzyskanych po zastosowaniu ogólnie dostępnych opatrunków handlowych. Nie zaobserwowano jednak wyraźnych korzyści pod względem zamknięcia rany i odtwarzania się nabłonka. Przeprowadzone obserwacje potwierdziły zależność syntezy hydroksyproliny i jej wykorzystanie w syntezie kolagenu od dostępnego tlenu. Dodatkowo wykazano, że zlokalizowany tlen może potencjalnie przyczynić się do gojenia się rany poprzez ulepszoną syntezę i organizację kolagenu, ale jego nadmiar niekoniecznie jest potrzebny, aby uzyskać wcześniej wspomniane korzyści [13].

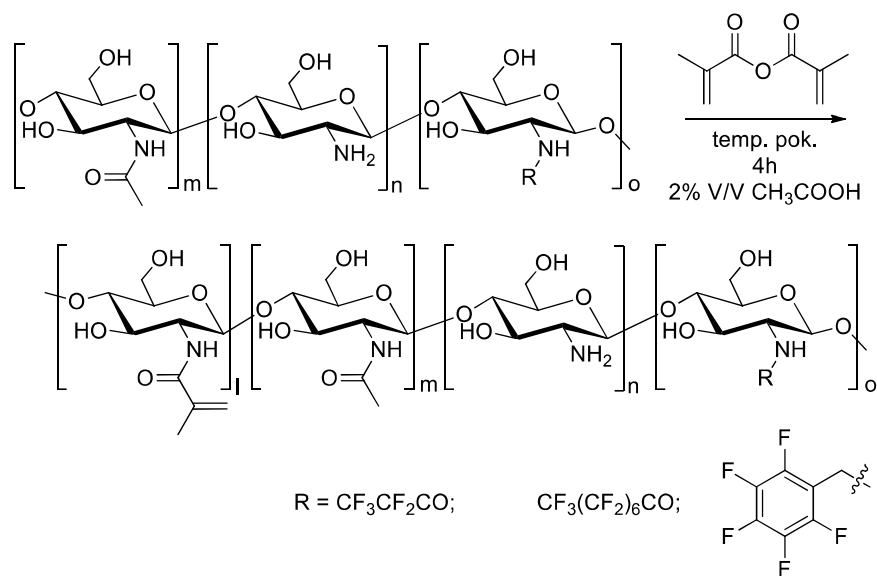
Serię biokompatybilnych hydrożeli mogących wielokrotnie pobierać i dostarczać tlen, uzyskano także przez wprowadzenie innych perfluorowanych grup do cząsteczki metakryloamidu chitozanu, np. Rys. 7 i 8.

Prezentowane polimery zdolne do zatrzymywania, a następnie uwalniania tlenu znalazły zastosowanie w dermatologii. Hydrożele na ich bazie z fluorowaną grupą aromatyczną wykazywały zwiększone pobieranie tlenu i przedłużone jego uwalnianie w porównaniu ze związkami posiadającymi liniowy łańcuch polifluorowany [9,14].

Materiały chitozanowe wykorzystywane są również do wytwarzania stabilnych aerożeli, np. na bazie zredukowanego tlenku grafenu (CGA) [15]. Fluorowany CGA (fCGA) jest bardziej hydrofobowy niż CGA dzięki obecności 1H,1H,2H,2H-perfluorodekanotolu (PFDT) na jego powierzchni. Oba materiały, zarówno CGA jak i fCGA, posiadają właściwości oddzielania oleju i wody, a także zdolność adsorpcji organicznej. Ze względu na niski koszt i wydajność działania aerozele takie, mogą być wykorzystywane na dużą skalę w sytuacjach kryzysowych spowodowanych wyciekami ropy lub w przypadku zanieczyszczenia akwenów wodnych innymi odpadami olejowymi [15].



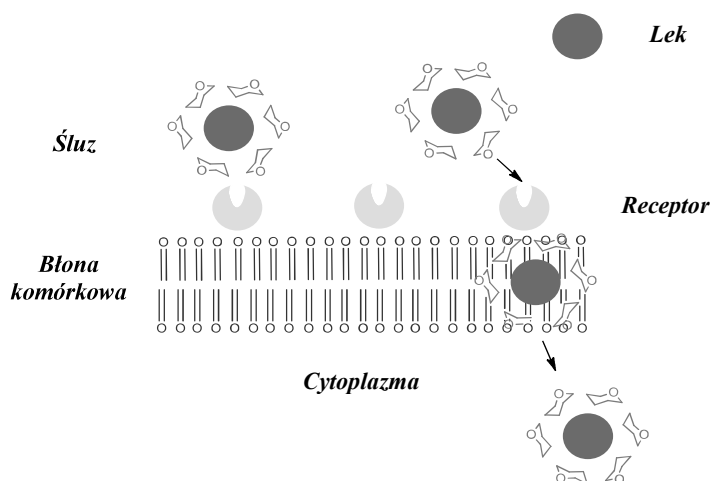
Rysunek 7. Schemat reakcji wprowadzania fluorowanych pierścieni i łańcuchów do cząsteczki chitozanu
 Figure 7. Scheme of introduction of fluorinated rings and chains into the chitosan molecule



Rysunek 8. Metakrylowanie fluorowanego chitozanu
 Figure 8. Methacrylation of fluorinated chitosan

3. POLISACHARYDOWE MATERIAŁY BIOADHEZYJNE

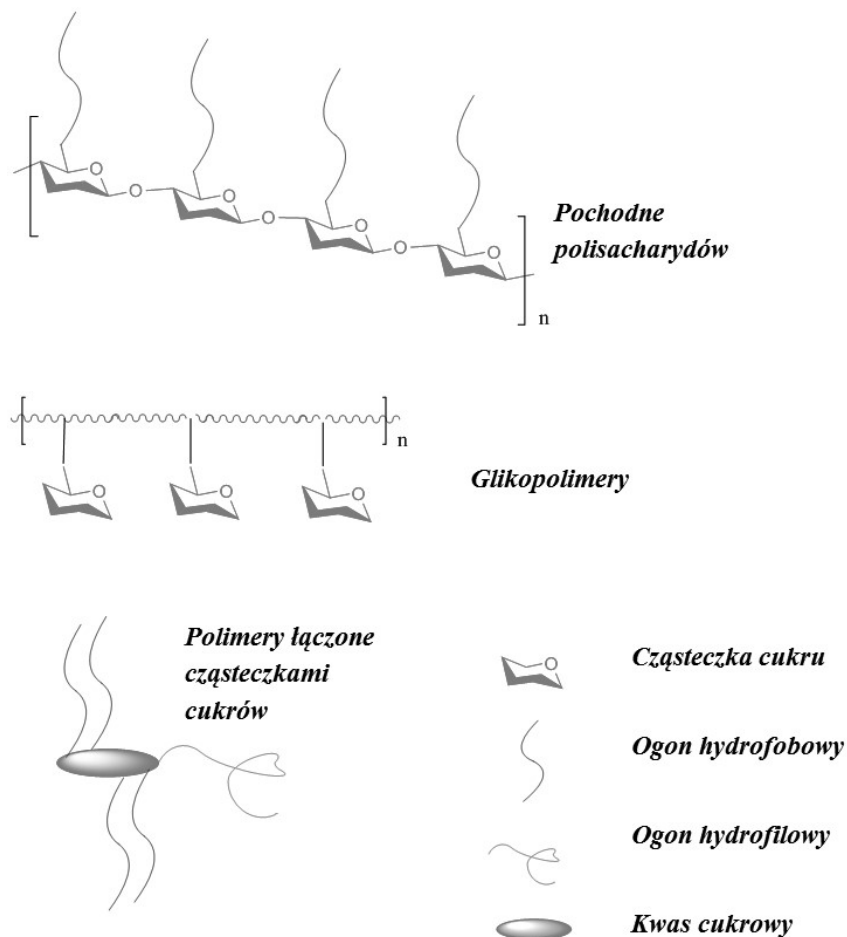
Węglowodany (CH_2O)_n, to klasa molekuł występujących licznie w naturze, która obejmuje zarówno proste cukry, jak i duże cząsteczki polisacharydów. Najprostsze z nich, monosacharydy ($n = 3,5,6$) stanowią podstawowy element budulcowy ścian komórkowych. Dzięki różnorodności wiązań poprzez grupy hydroksylowe węglowodany pełnią liczne funkcje biologiczne w organizmach żywych wchodząc w interakcje z tkankami biologicznymi. Z tego względu związki te są wykorzystywane jako preparaty bioadhezyjne, szczególnie w kontekście błony śluzowej (Rys. 9) [16].



Rysunek 9. Działanie preparatów mukoadhezyjnych – aplikacja substancji leczniczych
Figure 9. The effect of mucoadhesive preparations - the application of medicinal substances

Węglowodany spełniają wymagania skutecznej platformy dla dostarczania leków i obrazowania *in vivo* [17]. Dzięki postępom w dziedzinie chemii polimerów, poliwęglowodany mogą być wykorzystywane jako materiały biomedyczne. Dzięki unikalnym strukturom i zdefiniowanym funkcjom już przez ponad dwie dekady wykorzystywane są jako łączniki nanocząstek (NPs) a także nanowłókien [18]. Wśród znanych systemów dostarczania leków, takich jak: lizosomy, hydrożele, polimerowe syntetyczne micelle, mikrosfery, mikrokapsułki, czy nanocząstki ciężko znaleźć takie, które nie posiadają pewnych mankamentów, tj. głównie wysokiej ceny np. mezoporowate nanocząstki [19], niskiej stabilności jak w przypadku miceli [20], potencjalnej toksyczności w przypadku nanocząstek [21-23]. Rozwiązaniem tego typu problemów w większości jest wykorzystanie naturalnie

występujących biomakrocząstek jakimi są polisacharydy [17] (Rys. 10).



Rysunek 10. Polimerowe systemy dostarczania leków na bazie cząsteczek cukrów
Figure 10. Polymeric drug delivery systems based on sugar molecules

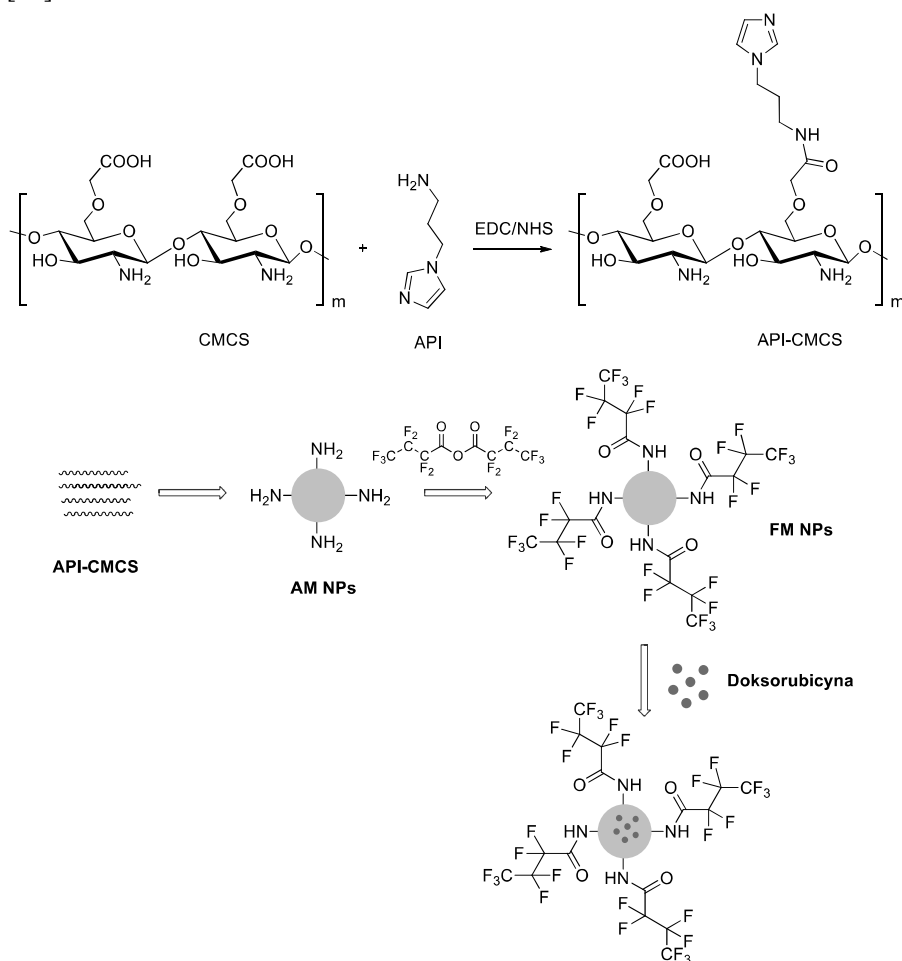
Polimerowe systemy dostarczania na bazie cząsteczek węglowodanów można podzielić na trzy kategorie w zależności od ról, jakie spełniają jednostki cukrowe: 1) pochodne polisacharydów, w których cząsteczka cukru jest polimerem w masie, 2) polimery funkcjonalizowane cukrem (tj. glikopolimery), gdzie ugrupowania cukrowe występują jako podstawione grupy oraz 3) polimery połączone cząsteczką cukru, w których cukier stosuje się jako miejsce rozgałęzienia łańcucha polimerowego (Rys. 10) [16].

3.1. FLUOROWANE NANOCZĄSTKI NA BAZIE CHITOZANU

Fluorowane materiały funkcjonalne znajdują zastosowanie dzięki właściwościom, takim jak: odporność na adsorpcję białka, stabilność i zwiększenie przepuszczalności przez błony komórkowe. Zhang i inni opracowali wydajny system dostarczania protein za pośrednictwem nanocząstek zbudowanych z białka oraz fragmentów fluoroamfifilowych. Takie połączenie przeciwdziała denaturacji białka i poprawia endocytozę [24]. Fluorowane nanosfery otrzymane na bazie poli-(ortoestrów) są stabilne w naczyniach krwionośnych przez co umożliwiają penetrację leku i wychwyt komórkowy *in vitro* i *in vivo* [25]. Systemy dostarczania leków wrażliwe na zmiany takich czynników jak: gradient pH, obecność enzymów (proteazy, glikozydazy, fosfolipazy) czy niedostateczna ilość tlenu wymagają dodatkowych modyfikacji strukturalnych. Podczas dystrybucji takich systemów w organizmie szczególnie ważne są różnice w wartościach pH poszczególnych odcinków przebytej drogi. W środowisku zewnątrzkomórkowym guza wartość pH=6,5 i jest niższa od otoczenia komórek niezmiennych nowotworowo, których otoczenie wskazuje pH=7,4. Lekko kwaśne środowisko miejsca docelowego wywołuje efekt spęcznienia nanocząstek, co ułatwia uwolnienie zawartego w jej wnętrzu leku. Opracowano m.in. kompozytowe nanocząstki na bazie zmodyfikowanego karboksymetylochitozanu (CMCS) w celu uzyskania wysokiej przepuszczalności błony komórkowej i dobrej wydajności w uwalnianiu leku. CMCS szczepiono *N*-(3-aminopropyl)-imidazolem (API) w celu przygotowania nanocząstek wrażliwych na pH (AM NPs), które następnie zmodyfikowano bezwodnikiem perfluoromasłowym z wytworzeniem nanocząsteczki z fluorem (FM NPs). Postawiono hipotezę, iż modyfikowany powierzchniowo materiał może mieć lepszą stabilność i przepuszczalność przez błony komórkowe, a wprowadzony API zwiększa zdolność uwalniania leku, w środowisku lekko kwaśnym, tj. pH=6,5 w otoczeniu komórek zmienionych nowotworowo (Rys. 11) [26].

Zarówno niefluorowane, jak i fluorowane nanocząstki wykazały wysoką odporność na adsorpcję białka i doskonałą stabilność. Ponadto zaobserwowano pęcznienie NPs zawierających imidazol wywołane lekko kwaśnym pH, co następnie skutkowało przyspieszonym uwalnianiem doksorubicyny. Potwierdził to szereg eksperymentów komórkowych. Fluorowane NPs wykazały zwiększony wychwyt komórkowy i lepszą cytotoksyczność dla czterech różnych rodzajów komórek nowotworowych. Na podstawie eksperymentów *in vivo* zweryfikowano, że NPs zawierające fluor mogą dostarczyć więcej leku w obszar guza niż niemodyfikowane NPs, co prowadzi do hamowania jego wzrostu. Poza tym oceny bezpieczeństwa biologicznego wykazały, że nanocząstki oparte na CMCS mogą znacznie zmniejszyć toksyczność ogólnoustrojową doksorubicyny. Tak więc wielofunkcyjny nanomateriał oparty na CMCS z wrażliwą na zmiany pH

powierzchnią może być potencjalnym nanonośnikiem w leczeniu nowotworów [26].



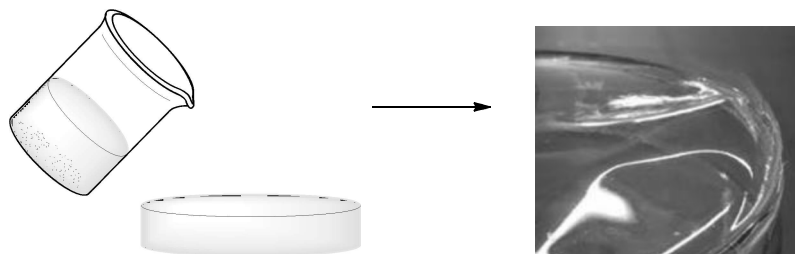
Rysunek 11. Synteza fluorownych nanocząstek na bazie chitozanu, służących do dostarczenia doksorubicyny

Figure 11. Synthesis of fluorinated nanoparticles based on chitosan for delivery of doxorubicin

4. WIELOFUNKCYJNE MEMBRANY CHITOZANOWE

Chitozan wykorzystuje się także jako matrycę do przygotowania membran wielofunkcyjnych, które mogą być stosowane np. jako materiał do opatrywania ran. Chitozan o stopniu deacetylacji na poziomie 65% jest rozpuszczalny w rozcieńczonych roztworach kwasów organicznych. 0,8 g takiego chitozanu można rozpuścić w 2% kwasie octowym, w temperaturze pokojowej, a następnie

rozcieńczyć go wodą w stosunku 1:2 by otrzymać elastyczną membranę (Rys. 12) [27].

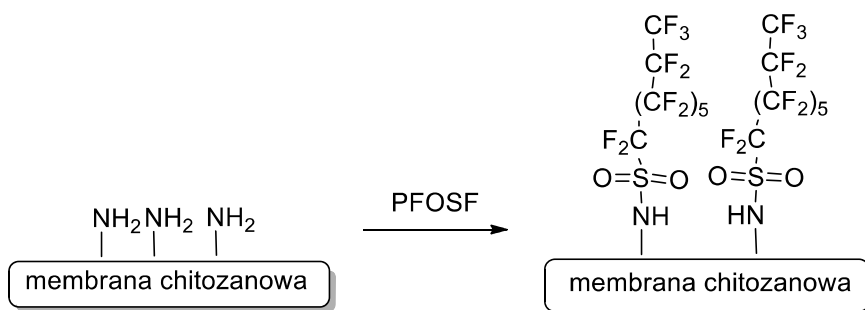


Rysunek 12. Schemat wytwarzania chitozanej membrany polimerowej
Figure 12. Scheme of production of a chitosan polymer membrane

Odpowiednio porowata membrana musi posiadać wysoką bioaktywność i doskonałą wytrzymałość mechaniczną. Stworzenie błon chitozanych o pożądanych właściwościach wymaga modyfikacji na poziomie powierzchniowym lub objętościowym metodami chemicznymi i fizycznymi. Naturalna kruchość membran chitozanych, ich podatność na zmiany pH środowiska ograniczają jej zastosowanie. Wykorzystując np. wielościenne nanorurki węglowe MWCNT lub nieorganiczne nanomateriały [28] jako materiał wzmacniający, można poprawić właściwości mechaniczne membrany.

4.1. HYDROFOBOWA MODYFIKACJA CHITOZANOWYCH MEMBRAN ZWIĄZKAMI FLUROORGANICZNYMI

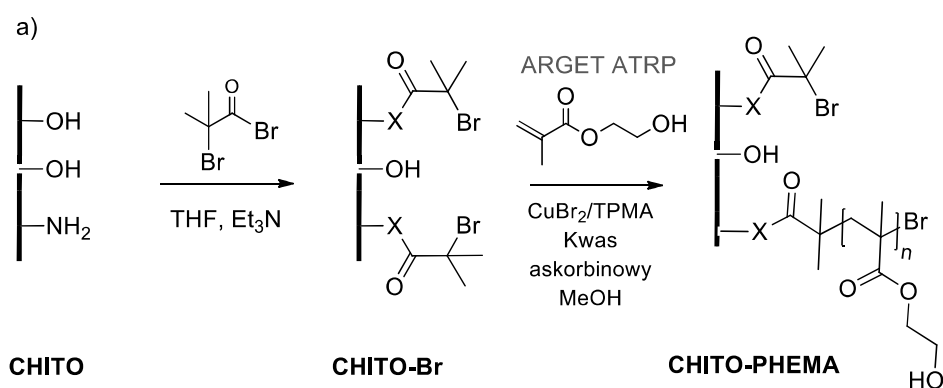
Chitozan ze swoimi właściwościami powierzchniowymi oraz biodegradowalnością jest obiecującym biomateriałem również do wytwarzania przyjaznych dla środowiska opakowań. Do tej pory wykorzystanie to jest jednak nadal ograniczone ze względu na wrażliwość chitozanu na wodę. W związku z tym, w celu zwiększenia wodoodporności filmów chitozanych stosuje się do ich produkcji dodatki hydrofobowe lub przeprowadza się modyfikację poprzez fluorowanie ich powierzchni (Rys. 13). Uzyskane perfluorooctylove membrany o niskiej energii powierzchniowej charakteryzują się wysokim kątem zwilżania 132° oraz doskonałymi właściwościami antybakteryjnymi wobec *Escherichia coli* i *Staphylococcus aureus* [28].

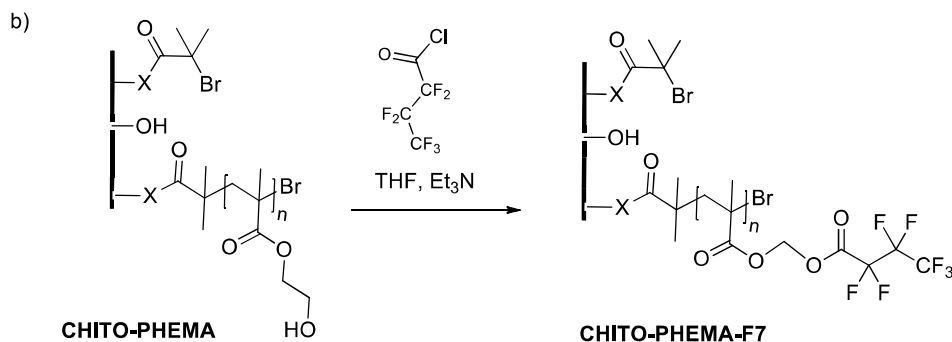


Rysunek 13. Funkcjonalizowanie fluorkiem perfluorooktanosulfonylu nanohybrydowych membran chitozanowych

Figure 13. Functionalization of perfluorooctane sulfonamide nanohybrid chitosan membranes

W modyfikacji filmów biopolimerowych często stosuje się metodę szczepienia polimerów. Metoda ta pozwala osiągnąć rozwiniętą powierzchnię chitozanu bez niszczenia jego wewnętrznych struktur. Przeprowadza się ją z wykorzystaniem polimeryzacji rodnikowej z odwracalną dezaktywacją (RDRP). Polimeryzacja rodnikowa z przeniesieniem atomu (ATRP) jest jedną z często wykorzystywanych technik RDRP. Umożliwia otrzymanie makromonomerów do wytwarzania membran o określonej budowie [29]. Proces PHEMA ATRP pozwala osiągnąć modyfikację dużych powierzchni przy użyciu przedstawionych poniżej na schemacie warunków eksperymentalnych (Rys. 14 a, b).





Rysunek 14. Hydrofobizacja filmu chitozanowego (a, b)

Figure 14. Hydrophobization of chitosan film (a, b)

Wprowadzenie związków fluorowanych zmienia zwilżalność filmów chitozanowych zapewniając hydrofobowy charakter i niską energię powierzchniową [30]. Zwiększa to stabilność filmu w wilgotnym środowisku, a wytwarzane z niego wodoodporne folie chitozanowe mogą znaleźć zastosowanie do produkcji opakowań.

UWAGI KOŃCOWE

Ostatnie lata przyniosły kolejne opracowania dotyczące rusztowań chitozanowych i ich zastosowania w szeroko pojętej inżynierii materiałowej. Chitozan z uwagi na biokompatybilność i biodegradowalność cieszy się nieustającym zainteresowaniem. Membrany chitozanowe wzbogacone związkami fluoorganicznymi wykazują właściwości zarówno antybakteryjne jak i hydrofobowe. Jako materiały o niskiej energii powierzchniowej i chropowatości w nanoskali stanowią bardzo pożądany surowiec do zastosowań biomedycznych.

PODZIĘKOWANIA

Dziękujemy studentom Wydziału Chemii, którzy udostępnili wyniki swoich eksperymentów i zdjęcia preparatów wykonanych podczas zajęć laboratoryjnych 2019/2020 z przedmiotu Materiały biomedyczne pod kierownictwem autorek tekstu.

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] W.M. Argüelles-Monal, J. Lizardi-Mendoza, D. Fernández-Quiroz, M.T. Recillas-Mota, M. Montiel-Herrera, *Polymers (Basel)*, 2018, 10.
- [2] H. El Knidri, R. Belaabed, A. Addaou, A. Laajeb, A. Lahsini, *Int. J. Biol. Macromol.*, 2018, **120**, 1181.
- [3] T.A. Sonia, C.P. Sharma, *Adv Polym Sci.*, 2011, **243**, 23.
- [4] S. Dimassi, N. Tabary, F. Chai, N. Blanchemain, B. Martel, *Carbohydr. Polym.*, 2018, **202**, 382.
- [5] X. Yang, X. Shi, R. D'arcy, N. Tirelli, G. Zhai, *J. Control. Release*, 2018, 114.
- [6] Z. Shariatinia, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2019, **263**, 131.
- [7] M. Shoshy, Peer D., *Chem Soc Rev.*, 2012, **41**, 2623.
- [8] A. Bernkop-Schnürch, S. Dünnhaupt, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2012, **81**, 4.
- [9] M. Bilska-Markowska, A. Sz wajca, B. Marciniak, *J. Fluor. Chem.*, 2019, **227**, 109364.
- [10] K.C. Lowe, M.R. Davey, J.B. Power, *Trends Biotechnol.*, 1998, **16**, 272.
- [11] J.G. Riess, *Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology*, 2006, **34**, 567.
- [12] P.S. Patil, S. Fathollahipour, A. Inmann, A. Pant, R. Amini, L.P. Shriver, N.D. Leipzig, 2019, **00**, 1.
- [13] P.S. Patil, M. Michelle Evancho-Chapman, H. Li, H. Huang, R.L. George, L.P. Shriver, N.D. Leipzig, *PLoS One*, 2018, **13**, 1.
- [14] A. Wijekoon, N. Fountas-Davis, N.D. Leipzig, *Acta Biomater.*, 2013, **9**, 5653.
- [15] N. Cao, Q. Lyu, J. Li, Y. Wang, B. Yang, S. Szunerits, R. Boukherroub, *Chem. Eng. J.*, 2017, **326**, 17.
- [16] Y. Zhang, J.W. Chan, A. Moretti, K.E. Uhrich, *J. Control. Release*, 2015, **219**, 355.
- [17] M. Swierczewska, H.S. Han, K. Kim, J.H. Park, S. Lee, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2016, **99**, 70.
- [18] K.A. Janes, P. Calvo, M.J. Alonso, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, **47**, 83.
- [19] Y. Zhao, B.G. Trewyn, I.I. Slowing, V.S.Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 8398.
- [20] Y. Lu, K. Park, *Int. J. Pharm.*, 2013, **453**, 198.
- [21] C.I.C. Crucho, P. Correia-Da-Silva, K.T. Petrova, M.T. Barros, *Carbohydr. Res.*, 2015, **402**, 124.
- [22] C. Li, J. Wang, Y. Wang, H. Gao, G. Wei, Y. Huang, H. Yu, Y. Gan, Y. Wang, L. Mei, H. Chen, H. Hu, Z. Zhang, Y. Jin, *Acta Pharm. Sin. B*, 2019, **9**, 1145.
- [23] D. Liu, F. Yang, F. Xiong, N. Gu, *Theranostics*, 2016, **6**, 1306.
- [24] Z. Zhang, W. Shen, J. Ling, Y. Yan, J. Hu, Y. Cheng, *Nat. Commun.*, 2018, **9**, 1.
- [25] X.C. and R.T. Guoqing Yan, Jun Wang, Panpan Zhang, Liefeng Hu, Xin Wang, Guanqing Yang, Shengxiang Fu, *Polym. Chem.*, 2017, **8**, 2063.
- [26] X. Cheng, X. Zeng, Y. Zheng, X. Wang, R. Tang, *Carbohydr. Polym.*, 2019, **208**, 59.
- [27] M. K. Struszczyk, *Polimery*, 2002, **47**, 396.
- [28] [K. Song, A. Gao, X. Cheng, K. Xie, *Carbohydr. Polym.*, 2015, **130**, 381.
- [29] K. Matyjaszewski, H. Dong, W. Jakubowski, J. Pietrasik, A. Kusumo, *Langmuir*, 2007, 4528.
- [30] B. Lepoittevin, T. Elzein, D. Dragoë, A. Bejjani, F. Lemée, J. Levillain, P. Bazin, P. Roger, I. Dez, *Carbohydr. Polym.*, 2019, **205**, 437.

Praca wpłynęła do Redakcji 15 lutego 2020 r.